冰核真菌削弱赤拟谷盗抗寒力的初步研究

冯玉香，何维勋

（中国农业科学院农业气象研究所，北京 100081）

摘要：赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 是不耐结冰的害虫，在冬季它通过降低过冷却点以避免结冰造成的致命伤害。冰核活性细菌能显著提高昆虫的过冷却点，使之在较高的零下温度发生结冰。试验证明冰核活性真菌也能显著提高赤拟谷盗的过冷却点。对照组平均过冷却点为－14.9℃。用 10 g/L 的冰核真菌制剂喷洒虫体，风干后测定，平均过冷却点提高到－4.8℃。用 0.1 g/L 处理后至少在 7 天内过冷却点保持较高。这些结果表明冰核真菌可能成为一种在冬季使用的、防治不耐结冰害虫的促冻杀虫剂。

关键词：冰核真菌；赤拟谷盗；抗寒力；过冷却点

中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2002）01-0148-04

Weakening the cold-hardiness of the red flour beetle *Tribolium castaneum* with ice-nucleating active fungus

FENG Yu-Xiang，HE Wei-Xun（Institute of Agrometeorology，Chinese Academy of Agricultural Sciences，Beijing 100081，China）

Abstract: The red flour beetle *Tribolium castaneum* is freeze-intolerant. They survives winter by lowering their supercooling point（SCP）. It is well known that ice-nucleating active（INA）bacteria can significantly elevate SCP of certain species of insects，thereby freeze occurs at higher temperature. Our experiments proved that ice-nucleating active fungus，*Fusarium graminearum* Schwabe，also significantly elevated SCP of the red flour beetle. In the control group，SCP of the adults averaged －14.9℃. The insects sprayed with INA fungus at a concentration of 10 g/L，had a mean SCP of －4.8℃. The SCP remained high in last 7 days after treatment with concentration of 0.1 g/L. The results suggested that the INA fungus could be used as a freeze-inducing insecticide for controlling the freeze-intolerant insect pests in winter.

Key words: ice-nucleating active fungus；*Tribolium castaneum*；supercooling point；cold-hardiness

赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 是一种严重的仓储害虫。因为它不耐结冰，所以一旦体内有冰晶生成就会对其造成致命伤害，温带地区可利用冬季低温冻死这种害虫（Knipling and Sullivan，1957）。冰晶生成时的温度称为过冷却点（supercooling points，SCP），是不耐结冰害虫致死的临界温度，通常用以表示这类害虫的抗寒力。害虫是一个含水系统，过冷却点与体内冰核的数量和活性有关。为了避免结冰，害虫在冬前会把冰核排出体外或使之失去活性，以降低过冷却点，减少越冬死亡率（Cannon and Block，1988）。人们设想，给虫体加上冰核，应该能够提高过冷却点，从而提高冻死率。许多研究者用冰核细菌进行的试验证实了这个设想，不同浓度的冰核细菌能使过冷却点提高 5～13.6℃（Strong-Gunderson *et al*.，1990；Lee *et al*.，1992；冯玉香和何维勋，1996）。在相同强度的低温下，使害虫死亡率大大提高，因此把它看作生物杀虫剂。冰核细菌的缺点是不耐高温和酸、碱，超过 25℃很快失去活性，在 pH 6.5～8.5 以外活性迅速减弱。近年发现某些真菌也能产生冰核（Pouleur *et al*.，1992；张敏等，1998），其热稳定性和对酸、碱的适应性优于细菌冰核，在 40～50℃下仍保持活性，pH 2～12 内活性稳定，因而更便于应用。本文报道冰核真菌在削弱赤拟谷盗抗寒力方面的作

基金项目：国家自然科学基金资助项目（39770495）

收稿日期 Received：1999-03-05；接受日期 Accepted：1999-10-29

用，为促冻杀虫提供理论依据。

1 材料和方法

以赤拟谷盗为供试害虫，从粮仓采集后在15℃左右适应3周，从中筛选出体长3.7±0.2 mm的成虫进行处理。

试验用的冰核真菌 *Fusarium gramineatum* 为浓缩后的冻干品。粉碎后配制成4个浓度（0.01、0.1、1、10 g/L）的制剂，置于4℃下备用。用喷雾法将制剂喷洒虫体，以喷蒸馏水的作为对照。待风干后将单个虫体放入用移液器吸液咀改造的聚丙烯小管内，腹部紧贴MF51型温度传感器，再悬挂在玻璃管内，加橡皮塞固定，置入低温冰箱中。温度传感器与AML1000数据采集器和AM286微型计算机相连。由控温系统操纵，使虫体温度按0.2℃/min的速率下降。当体液开始生成冰晶时，由于潜热释放，体温会突然升高，之后随热量散失而迅速降低。在计算机屏幕显示的虫体温度变化曲线上，可以根据这种变化特点判断是否发生结冰，发生结冰的可读出过冷却点。

2 结果与分析

2.1 对照组的抗寒力

对照组过冷却点的平均值为－14.9℃（n＝55），最高值为－7.5℃，最低值为－21.1℃，SD＝4.0，可见其抗寒力是比较强的，但个体间差异相当大。不同温度区间发生冻结的频率如图1，有接近正态分布的趋势。随着体温的降低，结了冰的成虫总数越来越多，累积冻结率随温度的变化情况如图2。

2.2 冰核真菌浓度对抗寒力的影响

按照上述试验方法，分别用4个浓度的冰核真菌制剂处理试虫，测定其过冷却点，结果如表1。

表1 冰核真菌剂量对赤拟谷盗过冷却点的影响

Table 1 Effect of INA fungus dosage on SCP of the red flour beetle adult

剂量（g/L）Dosage	测定虫数 No. adults tested	过冷却点（℃）SCP	过冷却点范围（℃）Ranges of SCP
10	55	－4.8±1.0 a	－2.8～－7.2
1	55	－5.5±1.1 ab	－3.8～－11.7
0.1	55	－6.9±1.1 b	－4.6～－13.8
0.01	55	－9.4±2.8 c	－5.0～－16.7
CK	55	－14.9±4.0 d	－7.5～－21.1

注：表中所列过冷却点为平均数±标准差。同一列中具有不同字母的为Duncan多重比较差异显著（$P<0.05$）

SCP is presented as mean ± SD. Means in the same column followed by different letters are significantly different by Duncan's multiple range test（$P<0.05$）

各浓度处理后的平均过冷却点都比对照有明显提高。菌剂浓度越大，过冷却点越高。经方差分析，$F=35.34$，$F>F_{0.05}$（＝2.40），说明不同浓度的

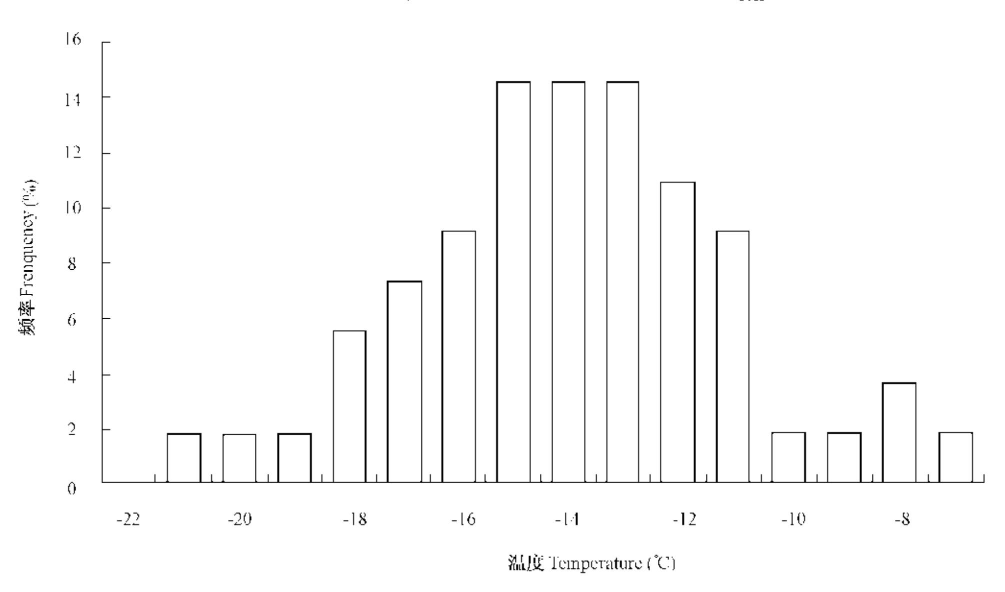


图1 赤拟谷盗过冷却点的频率分布

Fig. 1 Frequency of individual supercooling points（SCP）in the red flour beetle adults

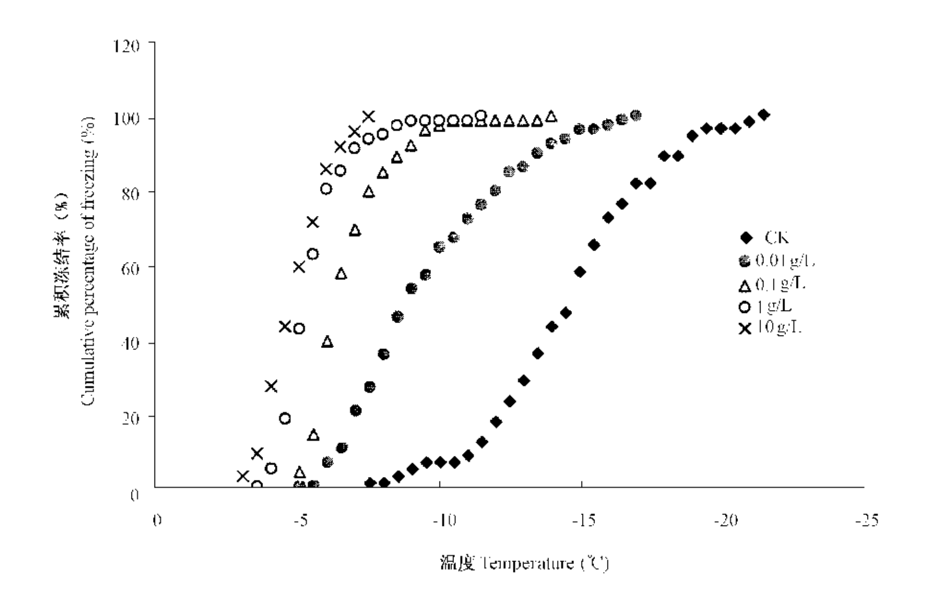


图2 不同浓度冰核真菌处理的成虫累积冻结率

Fig. 2 Cumulative freezing percentages of adults treated with different dosages of ice-nucleating active (INA) fungus

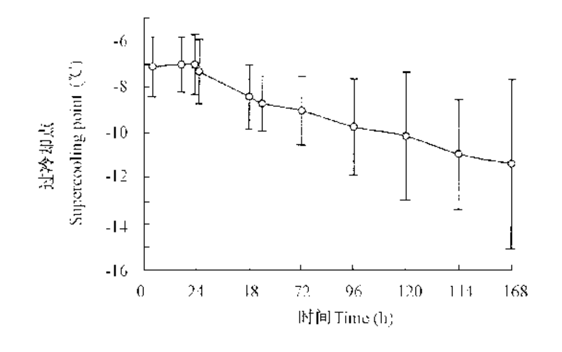


图3 过冷却点随冰核真菌处理后时间的变化

Fig. 3 Changes in SCP of *T. castaneum* adults with time after treatment of INA fungi

冰核真菌对赤拟谷盗的过冷却点有不同的影响。至于各处理之间的差异程度，经 Duncan 的多重比较，10 g/L 与 1 g/L 之间和 1 g/L 与 0.1 g/L 之间的差异不显著，其它各处理之间差异都显著。同一处理内过冷却点的标准差和最大差值随浓度加大而减小，即个体间抗寒力的差异变小。各处理的累积冻结率均随温度的降低而增大，4 条曲线都略呈 S 形（图 2）。

2.3 作用的有效期

用 0.1 g/L 菌剂处理 300 头成虫，风干后放入玻璃皿内，在 14℃左右保存。照上述试验方法每次取 16 头成虫测定，平均过冷却点随时间的变化如图 3。24 h 内过冷却点基本保持在 -6.9℃。之后逐渐降低，96 h 为 -9.4℃，168 h 降到 -11.3℃，

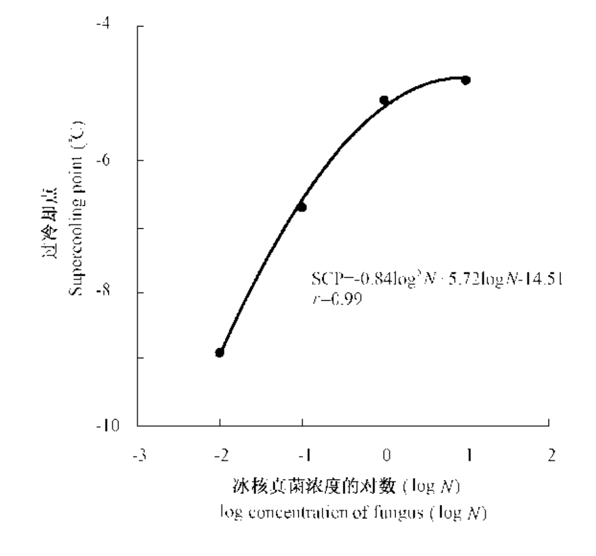


图4 累积结冰率与冰核真菌浓度对数的关系

Fig. 4 Relationship between SCP of the beetle and log concentration of INA fungus

比对照仍高出 3.6℃。

3 讨论

（1）赤拟谷盗保持过冷却的能力比较强，在 -10℃和 -22℃下的累积冻结率分别为 7.3% 和 100%，因此只有在温带地区（极端最低气温 -10℃ ~ -22℃），才有可能利用冬季低温不同程度地冻死这种害虫。如果虫体附着冰核真菌，过冷却点就会显著提高，相同低温下的累积冻结率显著

增大。10 g/L 菌剂处理后过冷却点提高 10.1℃，在 -5℃和 -10℃下能使累积冻结率分别达到 60%和 100%，使北亚热带地区（极端最低气温 -5℃ ~ -10℃）也可能利用冬季低温冻死这种害虫，温带地区低温对它的冻杀能力也大大提高。因此，可以把冰核真菌看作一种寒冷增效剂，用于冬季促冻杀虫。由于冰核真菌耐高温和酸、碱的能力比冰核细菌的强，在运输、保存和使用上比较方便，失活慢，有效期长，有明显的开发利用前景。

（2）为了增强冰核真菌促冻杀虫的能力，还要进行许多试验研究。比如本试验用新近研制的冰核真菌冻干剂，而 Lee 等（1992）用的是冰核细菌冻干剂，同样浓度处理赤拟谷盗分别使其平均过冷却点提高 8.0℃和 9.2℃，可见前者的促冻能力不及后者。这可能主要是因为二者的冰核含量不同，在 -5℃下前者每克含有 4.69×10^3 个冰核，而后者每克含有 2.02×10^4 个冰核，为前者的 4.3 倍。因此，如何提高冰核真菌冻干剂中冰核的含量，是需要进一步研究的重要课题。

（3）处理的菌剂浓度越大，害虫的过冷却点越高。Strong-Gunderson 等（1990）认为平均过冷却点与冰核细菌浓度的对数之间呈直线关系。本项试验得出的赤拟谷盗平均过冷却点与冰核真菌浓度对数之间的关系如图 4。浓度由 0.01 g/L 增大到 0.1 g/L，过冷却点提高 2.5℃；而由 1 g/L 提高到 10 g/L，过冷却点仅提高 0.7℃，可见直线方程不能正确描述测定结果，而抛物线方程能较好地拟合试验数据。它表明浓度增大一个数量级所能提高的过冷却点程度是随浓度加大而变小的，通过增大菌剂浓度以提高促冻杀虫效果的办法并非都很经济。

（4）选择适宜的喷洒浓度是提高促冻杀虫效果的重要一环。图 2 能够为选择适宜的浓度提供有用的依据。比如，面粉加工厂是赤拟谷盗繁殖、扩散的重要场所，北方面粉厂在隆冬时期，至少在春节前后一般都要停产一段时间，届时厂内停止供暖，打开门窗，使温度降低，是冻死赤拟谷盗常用的一个办法。如与此同时喷洒冰核真菌制剂，就能明显增加冻死率。适宜的喷洒浓度可参考图 2 确定，若害虫生境的最低温度低于 -13.5℃，则只要用 0.01 g/L 的菌剂就可能使 90% 的害虫冻死；如果最低温度为 -8.3℃，要求冻死 90%害虫，则需用 0.1 g/L 的浓度；若最低温度仅有 -6.3℃，就要用 10 g/L 的浓度才能冻死 90% 的害虫。

致谢 中国农业科学院植物保护研究所植物病虫害生物学国家重点实验室孙福在研究员为本项试验提供冰核真菌冻干品，特致衷心感谢。

参 考 文 献 （References）

Cannon R J C, Block W, 1988. Cold tolerance of microarthropods. *Biol. Rev.*, 63: 23 ~ 77.

Feng Y X, He W X, 1996. Studies on elevating the supercooling point of Indian meal moth larvae with bacterial ice nucleators. *Acta Entomol. Sinica*, 39（1）: 53 ~ 57. ［冯玉香，何维勋，1996. 细菌冰核提高印度谷螟过冷却点的研究. 昆虫学报，39（1）: 53 ~ 57］

Knipling E B, Sullivan W N, 1957. Insect mortality at low temperature. *Science*, 50: 368 ~ 369.

Lee R E, Strong-Gunderson J M, Lee M R, 1992. Ice-nucleating active bacteria decrease the cold-hardiness of stored grain insects. *J. Econ. Ent.*, 85: 371 ~ 373.

Pouleur S *et al.*, 1992. Ice-nucleation activity in *Fusarium acuminatum* and *Fusarium avenaceum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2 960 ~ 2 964.

Strong-Gunderson J M, Lee R E, Lee M R, 1990. Ingestion of ice nucleating active bacteria increases the supercooling point of the lady beetle, *Hippodamia convergens*. *J. Insect Physiol.*, 36: 153 ~ 157.

Zhang M *et al.*, 1998. Studies on biological characters of ice-formation by ice-nucleating active fungi. *Scientia Agricultura Sinica*, 31（6）: 50 ~ 55. ［张　敏等，1998. 冰核真菌成冰生物学特性研究. 中国农业科学，31（6）: 50 ~ 55］